

第 88 回麻布獣医学会 一般演題 2

Helicobacter pylori CagA による胃細胞での NF- κ B 経路活性化における GPR30 の関与について

三浦 篤史, 伊東 諒太, 鎌田 駿季, 池田 輝雄, 岡本 まり子

麻布大学 獣医免疫学研究室

【背景】

女性ホルモンであるエストロゲンは炎症制御に関与していることが報告されている。発表者らはこれまでに細胞膜型エストロゲン受容体 GPR30 も炎症性サイトカインの産生を抑制することを見出したが、その分子機構については現在も解析中である。GPR30 は子宮などの女性生殖器以外にも胃での発現が高いことが知られている。しかし胃における GPR30 の役割については分かっていないため、今回胃での GPR30 の炎症反応に対する効果を検討する。そこで胃炎の原因となる *Helicobacter pylori* が産生するタンパク質 CagA を胃上皮細胞株に過剰発現させた。CagA による細胞内シグナル伝達経路活性化が GPR30 によって制御されるかどうかを GPR30 特異的アゴニスト G-1 を用いて検討した。

【材料と方法】

理化学研究所より入手した *H.pylori* JCM12093T のゲノム DNA を鋳型にして、PCR により CagA コーディング領域全長約 3.4kbp、および細胞内シグナル活性化に重要な EPIYA 領域を含む約 900bp (CagA-EPI) をクローニングし pcDNA3/HA-tagged に挿入、シーケンス解析による塩基配列確認を行い 2 種類のベクターを作成した。作成した発現プラスミドをヒト胃上皮細胞株に導入し発現を確認した。次に過剰発現した

CagA により細胞内の炎症性シグナル活性化が誘導されるかどうか、その炎症性シグナル活性化が GPR30 により制御されるかどうかを、炎症性サイトカイン産生における代表的なシグナル伝達経路である NF- κ B 経路に着目しレポーターアッセイにより検討した。

【結果および考察】

作成した発現プラスミドは CagA-HA、CagA-EPI-HA の両者ともに発現が確認できた。免疫蛍光染色の結果より CagA-HA のよりも CagA-EPI-HA のほうが細胞内での発現が高いことがわかり、CagA-HA は細胞内でタンパク質分解を受けやすいことが示唆された。CagA による NF- κ B 経路活性化についてルシフェラーゼアッセイを行ったところ CagA-HA により NF- κ B の活性化が見られたが、CagA-EPI-HA では活性化は誘導されなかった。これは NF- κ B 経路を活性化するためには EPIYA 領域以外にも、CagA-EPI-HA には含まれない N 末端領域が関与している可能性が考えられた。CagA-HA による NF- κ B 経路の活性化は G-1 の投与により有意に抑えられた。これにより GPR30 からのシグナルが NF- κ B 経路を制御していることが示唆された。現在は *H.pylori* CagA により宿主胃細胞から NF- κ B 経路を介して産生される IL-8 への GPR30 の関与について更に検討中である。